# รายงานผลการวิจัย

## ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี พ.ศ.2534

เรื่อง

# การประเมินคุณภาพน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อความเหมาะสมในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ HIV

**APPRAISAL OF MERIT FOR APPROPRIATE USE OF REAGENT KITS FOR THE DETECTION OF ANTI-HIV**

โดย


นิคม ชัยศิริ

วิภา ด่านธำรงกูล

สมชาย อิสระวาณิชย์

รัตนา สินธุภัค

วราพรรณ ด่านอุตรา

วัฒนา ภู่วาณิชย์



จฬ
วพ 15
010498



สิงหาคม 2540

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์

ว.ส2.18

# รายงานผลการวิจัย

## ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี พ.ศ.2534

เรื่อง

## การประเมินคุณภาพน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อความเหมาะสมในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ HIV

## APPRAISAL OF MERIT FOR APPROPRIATE USE OF REAGENT KITS FOR THE DETECTION OF ANTI-HIV

โดย

นิคม ชัยศิริ
วิภา ด่านธำรงกูล
สมชาย อิสระวาณิชย์
รัตนา สินธุภัค
วราพรรณ ด่านอุดรา
วัฒนา อู่วาณิชย์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สิงหาคม 2540

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์

I19666251

7 พ.ย. 2544

# สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ..... III
บทคัดย่อภาษาไทย..... IV
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... V
บทนำ..... 1
อุปกรณ์และวิธีการวิจัย..... 2
วิธีสุ่มตัวอย่าง..... 2
การเตรียมตัวอย่าง..... 3
วิธีตรวจการติดเชื้อ HIV..... 3
ผลการศึกษา..... 4
วิจารณ์ผล..... 9
เอกสารอ้างอิง..... 10

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เลขหมู่ จฬ
QW 15
เลขทะเบียน 010498
วัน.เดือน.ปี 29 พ.ค. 44

**กิตติกรรมประกาศ**

คณะผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ให้การสนับสนุนเงินทุนในการดำเนินงานโครงการฯ นายแพทย์พิษณุ รักสกุลกานต์ ผู้อำนวยการโรงพยาบาลสันป่าตอง ตลอดจนเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและช่วยเหลือในการเก็บข้อมูลและตัวอย่างซีรั่มเพื่อนำมาทดสอบ และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ที่ให้การช่วยเหลือในการตรวจวิเคราะห์ยืนยันผลการทดสอบ รองศาสตราจารย์นายแพทย์วิชัย โปษยะจินดา ผู้ให้คำปรึกษา แนะนำ และวิจารณ์ และคุณวันเพ็ญ พรเจริญ ได้ช่วยพิมพ์รายงานวิจัยนี้ให้สำเร็จอย่างมีประสิทธิภาพ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

# การประเมินคุณภาพน้ำยาสำเร็จรูปเพื่อความเหมาะสมในการตรวจวินิจฉัยการติดเชื้อ HIV

นิดม ชัยศิริ* วิภา ด่านธำรงกูล** สมชาย อิสระวาณิชย์** รัตนา สินธุภัค** วราพรรณ ด่านอุตรา*** วัฒนา อู่วาณิชย์****

## บทคัดย่อ

การติดเชื้อ HIV มีผลกระทบต่อสังคมและเศรษฐกิจของประเทศ อันเนื่องจากในปัจจุบันยังไม่มีวิธีการรักษาให้หายขาดได้ ดังนั้นการตรวจวิเคราะห์ว่ามีการติดเชื้อ HIV หรือไม่จึงสำคัญอย่างยิ่งต่อผู้ที่ต้องเข้ามารับการตรวจ น้ำยาสำเร็จรูปที่นำเข้ามาใช้มาจากผู้ผลิตหลายบริษัทมีคุณภาพแตกต่างกันบ้างจึงได้ทำการทดสอบเพื่อประเมินคุณภาพและวิเคราะห์ผลที่เกิดขึ้น ได้ทดสอบน้ำยา ELISA 4 ชนิด และ PA โดยห้องปฏิบัติการ 2 แห่ง และยืนยันการติดเชื้อด้วย IFA และ WB จากการสุ่มตัวอย่างผู้เข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ โดยวิธีการสุ่มแบบเป็นระบบรวมจำนวน 1525 ตัวอย่าง ผลการวิเคราะห์ พบว่าการตรวจโดยวิธี ELISA และ PA เทียบกับวิธี IFA มีความคลาดเคลื่อนของผลบวก (FP) และผลลบ (FN) อยู่ระหว่าง 7.7-20.8% และ 0.6-1.2% ตามลำดับ Sensitivity 90.5-95.2% และ Specificity 96.9-99.0% นำเอาตัวอย่างทั้งหมดมาสุ่มตัวอย่างใหม่อย่างมีสัดส่วน โดยจำแนกผลบวกและลบในแต่ละชีรั่มผลบวกจากกลุ่มชาย หญิง และหญิงบริการ 40 29 และ 30 ราย ตามลำดับ และสุ่มตัวอย่างผลลบ 79 60 และ 32 ราย ตามลำดับ รวมทั้งสิ้น 270 ตัวอย่าง พบว่ามีตัวอย่างที่ให้ผลคลาดเคลื่อนจากเดิมเมื่อตรวจยันยันด้วยวิธี WB เพิ่มขึ้น 8 ตัวอย่าง มีความคลาดเคลื่อนของผลบวกและผลลบ ระหว่าง 16.1-29.5% และ0.6-5.8% ตามลำดับ การเปรียบเทียบผลการตรวจในแต่ละกลุ่มเป้าหมาย พบว่า ค่า FP มีมากในตัวอย่างจาก ชาย > หญิง > หญิงบริการ และมีค่า FP น้อยในหญิงทั่วไป ส่วนหญิงบริการไม่พบว่าการทดสอบให้ผลเป็น false negative (FN) เมื่อจำแนกตัวอย่างออกตามอายุ พบว่าชายอายุสูงกว่า 30 ปี มีตัวอย่างให้ FP มากกว่าชายอายุน้อย ค่า FP และ FN ลดลงมากเมื่อวิเคราะห์การติดเชื้อโดยใช้ ELISA เทียบกัน 2 บริษัท และยืนยันผลการตรวจด้วย WB จึงสรุปว่าน้ำยาที่ใช้ยังมีความคลาดเคลื่อนในการตรวจและควรใช้น้ำยาตรวจ 2 ชนิด เพื่อตรวจกรองแล้วยืนยันด้วยวิธี WB

* หน่วยชีวเคมี ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

** สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์การแพทย์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

*** ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

**** สถาบันวิจัยไวรัส กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข

# Appraisal of merit for appropriate use of reagent kits for the detection of anti-HIV

Nikom Chaisiri* Vipa Danthamrongkul ** Somchai Issaravanich** Ratana Sindhupak** Varapan Danutra*** Watana Auwanit****

**Abstact**

HIV infection has tremendously impact on social and economic problems since there is no way of curing this disease at the present time. Thus, it is very important to correctly diagnose the HIV infected individuals. Reagent kits which imported for use were manufactured from many companies which vary in quality so they must be tested prior to use. We tested 4 ELISA and one PA kits using IFA and WB as supplementary tests in 1525 samples obtained from Sanpatong Hospital, Chiengmai by a systematic sampling scheme. False positive (FP) between 7.7-20.8% and false negative (FN) 0.6-2.3% were shown from using these kits for screening. They had sensitivity between 90.5%-95.2% and specificity 96.9 - 99.0%. Resampling of sera (270) from seropositive samples : males (40), females (29) and prostitutes (30) and from seronegative samples: males (79), females (60) and prostitutes (32) and retested all of them with WB revealed 8 unconfirmed positive sera. Matched sample analysis resulted in higher FP (16.1-29.5% and FN (0.6-5.8%). Sera from prostitutes gave similar results of positivity in all reagent kits used and found no FN. Combination of 2 ELISA and tested with WB satisfactorily lowered the FP and FN values. It is concluded that all reagent kits used had some error in the serological analysis. It would be less error in serological screening for HIV antibodies if using 2 reagent kits to perform the test and confirmed with WB.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

* Biochemistry Unit, Department of Physioloty, Faculty of Veterinary Science Chulalongkorn University

** Institute of Health Research, Chulalongkorn University

*** Department of Biochemistry, Faculty of Science

**** Virus Research Institute, Department of Medical Sciences, Ministry of Public Health

## 1. บทนำ (Introduction)

โรคเอดส์หรือกลุ่มอาการภูมิคุ้มกันบกพร่อง (AIDS : Acquired immunodefficiency syndrome) ได้ระบาดในประเทศไทยมานานแล้ว โดยได้เริ่มตรวจพบการระบาดตั้งแต่ปี พ.ศ. 2527[1] และได้ระบาดเข้าสู่กลุ่มคนที่มีพฤติกรรมเสี่ยงต่อการติดเชื้อ เช่น กลุ่มติดยาเสพติด และหญิงบริการ เป็นต้น ซึ่งการระบาดในระยะ 5 ปีแรกได้เป็นไปอย่างรวดเร็วโดยเฉพาะในกลุ่มติดยาเสพติด[1,2] ต่อมาจึงได้ระบาดเข้ามาในกลุ่มเสี่ยงอื่นๆ และในที่สุดได้ระบาดเข้าสู่กลุ่มบุคคลทั่วไปทุกสายอาชีพ รายงานของกองระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข พบว่าในต้นปี พ.ศ.2538 [3] มีผู้ป่วยเป็นโรคเอดส์และแสดงอาการคล้ายเอดส์ถึง 23,977 ราย และมีผู้เสียชีวิตแล้ว 4,861 ราย ทั้งนี้ไม่รวมถึงการวินิจฉัยว่าตายด้วยโรคอื่นๆ ในผู้ป่วยที่ติดเชื้อเอดส์ เช่น ท้องร่วง และวัณโรค เป็นต้น โดยเหตุที่ประเทศไทยมีการระบาดของเชื้อ HIV (Human immunodefficiency virus) ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคเอดส์นี้อย่างรุนแรงและต่อเนื่องมาเป็นเวลานาน ความจำเป็นที่จะต้องใช้น้ำยาเพื่อตรวจการติดเชื้อ HIV จึงเพิ่มขึ้นมาก ทำให้ประเทศต้องเสียเงินตราเพื่อนำเข้า น้ำยาสำเร็จรูป (Reagent kits) ชนิดต่างๆ มาใช้ในการตรวจกรองและวินิจฉัยโรคเป็นอันมาก และที่สำคัญยิ่งกว่านั้นก็คือ ผู้ติดเชื้อจะต้องใช้จ่ายเพื่อเป็นค่ารักษาพยาบาลด้วยเวลาอันยาวนาน และตายในที่สุด จึงทำให้ประเทศต้องสูญเสียทั้งเงินตราและแรงงานจากกำลังของชาติที่อยู่ในวัยที่ยังมีสมรรถภาพสูงไปอย่างน่าเสียดายยิ่ง ดังนั้นการตรวจเพื่อให้ทราบสถานภาพที่แท้จริงของการติดเชื้อ จึงต้องอาศัยน้ำยาที่มีคุณภาพถูกต้องได้มาตรฐาน เพื่อป้องกันการเกิดความผิดพลาด เช่น ผลบวกเทียม (False positive : FP) และผลลบเทียม (False negative : FN)

น้ำยาที่มีคุณภาพอันเป็นที่ต้องการได้แก่ น้ำยาที่มีความไว (sensitivity)และมีความจำเพาะ (specificity) สูง แต่อย่างไรก็ดี น้ำยาที่มีความไวสูงมักจะมีความจำเพาะลดลง คือให้ผลบวกในบางตัวอย่างที่ไม่มี anti-HIV ตามข้อบ่งชี้ของการตรวจโดยวิธี WB (Western blot) นั่นคือมักจะมีผลบวกเทียมสูง ในทางตรงข้าม น้ำยาสำเร็จรูปที่มีความจำเพาะสูงมักจะมีความไวลดลง ซึ่งก็จะทำให้ไม่สามารถตรวจพบการติดเชื้อในบางตัวอย่างที่มี anti-HIV นั่นคือมีผลลบเทียมสูงขึ้นด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงต้องเลือกใช้น้ำยาในการตรวจการติดเชื้อตามวัตถุประสงค์ของแต่ละหน่วยงาน งานที่ต้องการหลีกเลี่ยงการนำเอาตัวอย่างที่ปนเปื้อนด้วย HIV ไปใช้ จึงควรเลือกการตรวจด้วยน้ำยาที่มีความไวสูงเพื่อให้เกิดผลลบเทียมน้อยที่สุด เช่น ในการเก็บเลือดจากผู้บริจาคและการถ่ายเลือด เป็นต้น ส่วนหน่วยงานที่ต้องการความจำเพาะสูง เนื่องจากการรายงานมีผลกระทบต่อเจ้าของตัวอย่าง เช่น ในการวินิจฉัยการติดเชื้อของผู้ป่วย การตรวจการติดเชื้อของคนงานเพื่อการเข้าทำงานหรือไปทำงานในต่างประเทศเป็นต้น ก็ควรใช้น้ำยาที่ให้ผลบวกเทียมต่ำ

น้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้ในปัจจุบันเพื่อตรวจการติดเชื้อ HIV อาจจัดออกได้เป็นสองประเภท คือ การตรวจแอนติบอดีส์ที่เกิดขึ้นเนื่องจากร่างกายได้รับเชื้อไวรัส HIV หรือการตรวจชิ้นส่วนของไวรัส โดยวิธีทางซีโรโลยี (serological method) กับอีกประเภทหนึ่งเป็นการตรวจหาเชื้อไวรัสโดยตรง การตรวจหาเชื้อไวรัสโดยตรงเป็นวิธีที่มีความจำเพาะสูงมาก แต่มีความไวต่ำ และต้องการผู้มีความชำนาญเป็นพิเศษในการแยกเชื้อไวรัสและการวิเคราะห์ รวมทั้งมีค่าใช้จ่ายสูงมาก วิธีการตรวจหาไวรัสโดยตรงนี้ยังขึ้นกับปริมาณของไวรัสเนื่องจากในบางระยะของโรค เชื้อไวรัสมีน้อยทำให้ตรวจไม่พบได้ การเก็บรักษาตัวอย่างก่อนตรวจจะต้องกระทำอย่างถูกต้องตามข้อกำหนดเพื่อป้องกันการสลายของไวรัส สำหรับการตรวจทางซีโรโลยีเป็นการตรวจแอนติบอดีส์ต่อ HIV เมื่อไวรัสนี้เข้าสู่ร่างกายแล้วระยะหนึ่ง การตรวจประเภทนี้มีความไวสูงกว่ามาก น้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน ถ้าเป็นการตรวจหาแอนติบอดีส์ ผู้ผลิตจะใช้น้ำยาที่มีแอนติเจนที่ได้มาจากส่วนต่างๆของไวรัส เช่น evelope, core และ regulatory proteins[4,5,6] หรือที่ได้จากการ

สังเคราะห์แอนติเจนที่มีสมบัติจำเพาะที่จะให้แอนติบอดีส์ต่อไวรัส HIV ที่อยู่ในซีรั่มผู้ป่วยเกาะจับได้อย่างจำเพาะ ซึ่งมักจะเป็นน้ำยาสำเร็จรูปที่มีการพัฒนาขึ้นมาใหม่โดยใช้เทคโนโลยีทางชีวโมเลกุล (Molecular biology) วิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย คือ การตรวจแอนติบอดีส์ต่อเชื้อไวรัส HIV ได้แก่ การตรวจโดยวิธี ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay), Particle (Gel) agglutination (PA). Radioimmunoprecipitation assay (RIPA), Immunofluorescence assay (IFA) และ Western blot (WB) วิธีการตรวจเหล่านี้ส่วนใหญ่จะเป็นวิธีที่รวดเร็วและมีความไวสูง และราคาไม่แพง นอกจากการตรวจโดยวิธี WB ซึ่งมีราคาแพงมาก

การใช้น้ำยาเหล่านี้ในการตรวจกรองหาการติดเชื้อ HIV ในประเทศไทยมีรูปแบบเดียวกับที่นิยมใช้ทั่วไป คือถ้าเป็นโรงพยาบาลขนาดใหญ่และศูนย์บริการโลหิต จะใช้การตรวจโดยวิธี ELISA เมื่อตรวจพบว่าตัวอย่างใด เป็นผลบวกหรือสงสัยว่าอาจติดเชื้อจะตรวจยืนยันอีกครั้งหนึ่งด้วยวิธี WB ส่วนในคลินิกขนาดเล็กหรือโรงพยาบาลขนาดเล็กที่มีการตรวจเลือดน้อยจะตรวจด้วยวิธีที่ไม่ต้องอาศัยเครื่องมือราคาแพง เช่น การใช้วิธี PA ซึ่งอาศัยการดูผลด้วยตาเปล่าเป็นต้น น้ำยาสำเร็จรูปที่ใช้ได้สั่งซื้อจากบริษัทต่างๆ ทั้งจากอเมริกา ยุโรป หรือจากญี่ปุ่น เป็นส่วนใหญ่ การตัดสินใจในการใช้น้ำยาส่วนใหญ่ดูจากคุณสมบัติที่บ่งไว้ในใบคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตหรือความเชื่อถือในบริษัทผู้ผลิต การประเมินคุณภาพน้ำยาก่อนที่จะนำมาใช้มีการกระทำน้อยมากหรืออาจไม่ได้ทำการประเมินเลยในบางขณะ โดยเหตุที่มีการใช้น้ำยาจากหลายบริษัท จึงอาจให้ผลในการตรวจกรองต่างกันได้ ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการผลิตน้ำยา เทคนิคการเตรียมชิ้นส่วนจากไวรัส และความเข้มข้นของแอนติเจนที่ใช้ต่างกัน จึงเป็นไปได้ว่าซีรั่มบางตัวอย่างให้ผลบวกกับน้ำยาชนิดหนึ่ง แต่อาจให้ผลลบกับอีกชนิดหนึ่งได้ [7]

ผู้ติดเชื้อ HIV เองก็อาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้การตรวจกรองการติดเชื้อมีผลผิดพลาด ถ้าแบ่งการติดเชื้อออกเป็นกลุ่มตามโอกาสของการติดเชื้ออาจแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ กลุ่มที่มีความเสี่ยงสูง ได้แก่ กลุ่มรักร่วมเพศ กลุ่มติดยาเสพติด และกลุ่มให้บริการทางเพศ กับอีกกลุ่มหนึ่งได้แก่ กลุ่มที่มีความเสียงต่ำ คือกลุ่มบุคคลทั่วไป กลุ่มแรกมีความชุกของการติดเชื้อสูงกว่ากลุ่มหลังมาก Behets และคณะ[8] พบว่าในกลุ่มที่มีความชุกของโรคต่างกัน เมื่อนำเอาน้ำยามาทดสอบความไว ความจำเพาะ Positive predictive value และ Negative predictive value จะแตกต่างกันมากดังนั้นการประเมินความเหมาะสมของการตรวจการติดเชื้อโดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปที่เป็นที่นิยมใช้กันอยู่ในประเทศจึงนับว่าเป็นประโยชน์ต่อวงการวิเคราะห์การติดเชื้อ HIV เนื่องจากในปัจจุบันค่าใช้จ่ายที่เกิดจากการระบาดของเชื้อไวรัสชนิดนี้ ได้พุ่งขึ้นสูงมากจนอาจเป็นปัญหาหลักของประเทศในอนาคต

## 2. อุปกรณ์และวิธีการวิจัย (Materials and Methods)

### 2.1 วิธีสุ่มตัวอย่าง

ตัวอย่างซีรั่มได้จากการสุ่มเจาะเลือดอย่างเป็นระบบ (Systematic random sampling) จากผู้ป่วยนอกและในที่เข้ารับการรักษา ณ โรงพยาบาลสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่ดังนี้

สุ่มตัวอย่างจากผู้ป่วยนอกตามลำดับของการเข้ามาขึ้นบัตร จำแนกผู้ป่วยชายและหญิงโดยเลือกเอาคนที่ 1, 5, 10, 15 ..... สัปดาห์ละ 1 วันทุกสัปดาห์ และเปลี่ยนวันสุ่มตัวอย่างเป็นวันถัดไปในสัปดาห์ถัดไปตามลำดับ เช่น สัปดาห์ที่ 1 สุ่มตัวอย่างในวันจันทร์ สัปดาห์ที่ 2 จะเลื่อนไปสุ่มตัวอย่างในวันอังคาร เป็นต้น ส่วนการสุ่มตัวอย่างจากผู้ป่วยในได้ทำ

การเก็บตัวอย่างเดือนละครั้งๆ ละ 1 สัปดาห์ โดยเจาะเลือดจากผู้ป่วยทุกคนที่มารับการรักษา โดยการเก็บตัวอย่างซีรั่มเริ่มจากสัปดาห์แรกของเดือนที่เริ่มเก็บตัวอย่างแล้วเลื่อนไปเก็บตัวอย่างในสัปดาห์ที่ 2 ของเดือนที่สอง เป็นลำดับ ทั้งสองกรณีคัดเลือกเฉพาะผู้ป่วยที่มีอายุระหว่าง 15-60 ปี และไม่เลือกเก็บตัวอย่างจากผู้ป่วยซ้ำกัน ผู้ป่วยจะถูกสัมภาษณ์ตามแบบฟอร์มที่กำหนดในวันที่มีการเก็บตัวอย่าง ระยะเวลาในการศึกษา ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2534-ธันวาคม 2535 รวมทั้งสิ้น 1,525 ราย

**2.2 การเตรียมตัวอย่าง**

เลือดที่เจาะจากผู้ป่วยจะถูกทิ้งไว้ ณ อุณหภูมิห้องเพื่อให้แข็งตัว นำซีรั่มที่แยกได้ไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) เอาเม็ดเลือดที่อาจปนมาออกอีกครั้งด้วยความเร็ว 3,000 รอบต่อนาทีนาน 15 นาที แบ่งซีรั่มที่แยกได้ออกเป็น 5 ส่วน ประมาณส่วนละ 0.5-1.0 มล. เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 $^{\circ}$ซ หลังจากทำการลงรหัสจำเพาะของตัวอย่างถูกต้องแล้ว

**2.3 วิธีตรวจการติดเชื้อ HIV**

ตรวจการติดเชื้อ HIV โดยวิธี ELISA ใช้น้ำยาจากบริษัทต่างๆ 4 บริษัท คือ น้ำยาสำเร็จรูป Vironostika Anti-HIV Uni-Form ของบริษัท Organon Teknika, Recombinant HIV-1/HIV-2 EIA ของบริษัท Abbott Diagnostics, Wellcozyme HIV Recombinant ของบริษัท Wellcome Diagnostics และ Rapid Elavia ของบริษัท Diagnostic Pasteur การตรวจด้วยวิธี Particle agglutination (PA) โดยห้องปฏิบัติการ 2 แห่ง ($PA_1$, $PA_2$) ใช้น้ำยา Serodia-HIV ของบริษัท Fujirebio การทดสอบด้วยวิธี Immunofluorescence assay (IFA) ตรวจโดยห้องปฏิบัติการของหน่วยไวรัสวิทยา กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข การตรวจเพื่อยืนยันการติดเชื้อโดยวิธี Western blot (WB) ใช้น้ำยาสำเร็จรูปจากบริษัท Diagnostic Biotechnology ซึ่งตรวจได้ทั้ง anti-HIV-1 และ HIV-2 โดยตรวจสอบแถบสีที่เกิดขึ้นตามมาตรฐานข้อกำหนดของบริษัทผู้ผลิต และบ่งชี้ว่าอาจมีการติดเชื้อ HIV-2 โดยการดูการปรากฏของแถบที่จำเพาะต่อ gp 36

ในการตรวจวิเคราะห์ได้แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนที่ 1 ตรวจการติดเชื้อ HIV ในซีรั่มจำนวน 1,525 ตัวอย่างด้วยวิธี ELISA 4 ชนิด วิธี PA และ IFA ในกรณีที่ได้ผลเป็นบวกจะทำการทดสอบยืนยันด้วยวิธี Western blot ขั้นตอนที่ 2 เปรียบเทียบการเกิดผลบวกและผลลบคลาดเคลื่อนในแต่ละกลุ่มประชากรเป้าหมาย จากจำนวนซีรั่มที่เหลือ 1,500 ตัวอย่าง เป็นชาย หญิงทั่วไป และหญิงบริการ จำนวน 684 723 และ 93 ตัวอย่างตามลำดับ โดยจำแนกเป็นผลบวกและผลลบตามผลการวิเคราะห์จากห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลสันป่าตองในแต่ละกลุ่มแล้วคัดเลือกตัวอย่างดังนี้

กลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลบวกคัดเลือกชายและหญิงบริการร้อยละ 50 (จำนวน 40 และ 30 ตัวอย่างตามลำดับ) สำหรับหญิงทั่วไปคัดเลือกมาตรวจทั้งหมด จำนวน 29 ตัวอย่าง ส่วนกลุ่มตัวอย่างที่ให้ผลลบเบื้องต้น ชายและหญิงทั่วไปนำมาวิเคราะห์ประมาณร้อยละ 10 จำนวน 79 และ 60 ตัวอย่างตามลำดับ หญิงบริการนำมาทดสอบเกือบทั้งหมด จำนวน 32 ตัวอย่าง รวมทั้งสิ้น 270 ตัวอย่าง นำมาทดสอบตรวจวิเคราะห์อีกครั้งหนึ่งด้วยวิธี ELISA 4 ชนิด PA และ WB (รายละเอียดแสดงในตาราง 3,4)

## ผลการศึกษา

**1. เปรียบเทียบผลการตรวจวิธีต่างๆกับ วิธี IFA**

การตรวจหาแอนติบอดีส์ต่อ HIV ด้วยวิธี ELISA 4 ชนิด วิธี PA และวิธี IFA จากตัวอย่างซีรั่มของผู้ป่วยที่มารักษาในโรงพยาบาลจำนวน 1,525 ตัวอย่าง แสดงผลในตารางที่ 1 จะเห็นได้ว่า ถ้าตรวจการติดเชื้อด้วยวิธี ELISA เทียบกับวิธี IFA ผลการตรวจด้วยน้ำยาบริษัท Organon มีความคลาดเคลื่อนของผลบวก (FP) น้อยที่สุด (10.8%) ส่วนบริษัท Pasteur มีความคลาดเคลื่อนมากที่สุด (20.8%) สำหรับค่าความคลาดเคลื่อนของผลลบ (FN) ปรากฏว่ามีค่าน้อยที่สุด (0.6%) เมื่อใช้น้ำยาของบริษัท Pasteur ส่วนบริษัท Abbott ให้ความคลาดเคลื่อนมากที่สุด (1.2%)

**ตารางที่ 1** ผลการตรวจหาแอนติบอดีส์ต่อ HIV ในซีรั่มผู้ป่วยโดยใช้น้ำยาสำเร็จรูปวิธี ELISA และ PA เปรียบเทียบกับวิธี IFA

| | | ผลการตรวจ IFA | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | บวก (จำนวน =168) | ลบ (จำนวน=1,358) | รวม (จำนวน= 1,525) | อัตราความคลาดเคลื่อน |
| **ก. ELISA** | | | | | |
| Organon | บวก | 157 | 19 | 176 | 19/176 = 10.8% |
| | ลบ | 11 | 1338 | 1349 | 11/1349 = 0.8 % |
| Abbott | บวก | 152 | 24 | 176 | 24/176 = 13.6 % |
| | ลบ | 16 | 1333 | 1349 | 16/1349 = 1.2% |
| Wellcome | บวก | 159 | 26 | 185 | 26/185 = 14.1 % |
| | ลบ | 9 | 1331 | 1340 | 9/1340 = 0.7% |
| Pasteur | บวก | 160 | 42 | 202 | 42/202 = 20.8% |
| | ลบ | 8 | 1315 | 1323 | 8/1323 = 0.6 % |
| **ข. PA** | | | | | |
| PA1 | บวก | 137 | 13 | 168 | 13/168 = 7.7 % |
| | ลบ | 13 | 1344 | 1375 | 13/1375 = 1.0 % |
| PA2 | บวก | 152 | 30 | 182 | 30/182 = 16.5 % |
| | ลบ | 16 | 1327 | 1343 | 16/1343 = 1.2 % |

หมายเหตุ IFA = Immunofluorescence assay PA = Particle agglutination

การตรวจโดยห้องปฏิบัติการ 2 แห่ง ด้วยวิธี PA ซึ่งเป็นน้ำยาจากบริษัทเดียวกัน (PA1, PA2) ผลการตรวจพบว่าความคลาดเคลื่อนของผลบวกต่างกันประมาณ 2 เท่า (7.7 และ 16.5 %) สำหรับผลลบไม่ต่างกัน (1.0 และ 1.2 %)

พลสมุดกลาง พุทธมณฑิรกรม
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ค่าของความไว (Sensitivity) และความจำเพาะ (Specificity) ของการตรวจการติดเชื้อ HIV โดยน้ำยาสำเร็จรูปแต่ละชนิด พบว่าน้ำยา ELISA ของบริษัท Pasteur มีความไวมากที่สุด (95.2%) ส่วนของ บริษัท Abbott มีความไวต่ำสุด (90.5%) ในแง่ของความจำเพาะบริษัท Organon มีค่ามากที่สุด (98.6%) ส่วนของบริษัท Pasteur มีค่าน้อยที่สุด (96.9%) การตรวจด้วย PA จากห้องปฏิบัติการ 1 (PA1) ให้ความไวต่ำ (81.5%) กว่าอีกห้องปฏิบัติการหนึ่ง (PA2) (90.5%) แต่ให้ค่าความจำเพาะสูงถึง 99% (ตารางที่ 2)

**ตารางที่ 2** ความไว (sensitivity) และความจำเพาะ (specificity) ของน้ำยาชนิดต่างๆ

| ELISA | Sensitivity (%) | Specificity (%) |
|---|---|---|
| Organon | 93.5 | 98..6 |
| Abbott | 90.5 | 98.2 |
| Wellcome | 94.6 | 98.1 |
| Pasteur | 95.2 | 96.9 |
| $PA_1$ | 81.5 | 99.0 |
| $PA_2$ | 90.5 | 97.8 |

**2.เปรียบเทียบผลการตรวจด้วยวิธีต่างๆ กับ วิธี WB ในแต่ละกลุ่มประชากรเป้าหมาย**

การตรวจวิเคราะห์การติดเชื้อ HIV เบื้องต้นโดยห้องปฏิบัติการของโรงพยาบาลสันป่าตอง จำนวน 1,500 ตัวอย่างได้ผลบวกในกลุ่มชาย หญิงทั่วไป และหญิงบริการร้อยละ 11.5 4.0 และ 61.3 ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่อนำซีรั่มจำนวน 270 ตัวอย่าง (ตารางที่ 4) มาตรวจโดยวิธี WB (ตารางที่ 5) พบว่าตัวอย่างซีรั่มเพศชายที่ให้ผลบวก 39 ตัวอย่าง ลดลงกว่าผลการตรวจกรอง 1 ตัวอย่าง ส่วนตัวอย่างที่ให้ผลลบทั้งหมด 79 ตัวอย่าง ให้ผลการตรวจเท่าเดิม หญิงทั่วไปให้ผลการตรวจโดยวิธี WB เหมือนกับการตรวจเบื้องต้นทั้ง 2 กลุ่ม ส่วนผลการตรวจในกลุ่มหญิงบริการพบว่าวิธี WB ให้ผลบวกลดลงจากผลการตรวจกรองเดิม 7 ตัวอย่าง

**ตารางที่ 3** ผลการตรวจซีรั่มของตัวอย่างทั้งหมดโดยวิธี PA จากโรงพยาบาลสันป่าตอง ($PA_1$)

| | ผลบวก<br>จำนวน(%) | ผลลบ<br>จำนวน(%) | รวม<br>จำนวน(%) |
|---|---|---|---|
| ชาย | 79( 11.5) | 605( 88.5) | 684(100.0) |
| หญิงทั่วไป | 29( 4.0) | 694( 96.0) | 723(100.0) |
| หญิงบริการ | 57( 61.3) | 36( 38.7) | 93(100.0) |
| รวม | 165( 11.0) | 1385( 89.0) | 1500(100.0) |

I19666251

| | ผลบวก<br>จำนวน(%) | ผลลบ<br>จำนวน(%) | รวม<br>จำนวน(%) |
|---|---|---|---|
| **ตารางที่ 4** จำนวนตัวอย่างที่สุ่มในแต่ละกลุ่มประชากรเพื่อตรวจวิเคราะห์ใหม่โดยวิธี ELISA PA และ WB | | | |
| ชาย | 40( 40.4) | 79( 46.2) | 119( 44.1) |
| หญิงทั่วไป | 29( 29.3) | 60( 35.1) | 89( 33.0) |
| หญิงบริการ | 30( 30.3) | 32( 18.7) | 62( 23.0) |
| รวม | 99(100.0) | 171(100.0) | 270(100.1) |
| **ตารางที่ 5** ผลการตรวจโดยวิธี Western Blot (WB)ในแต่ละกลุ่มประชากร | | | |
| ชาย | 39( 42.9) | 80( 44.7) | 119( 44.1) |
| หญิงทั่วไป | 29( 31.9) | 60( 33.5) | 89( 33.0) |
| หญิงบริการ | 23( 25.3) | 39( 21.8) | 62( 23.0) |
| รวม | 91(100.1) | 179(100.0) | 270(100.1) |

การตรวจสอบการติดเชื้อ HIV โดยวิธี ELISA 4 ชนิด $PA_1$ $PA_2$ และวิธี WB จำนวน 270 ตัวอย่าง พบว่าค่าความคลาดเคลื่อนของผลบวกและผลลบของน้ำยาแต่ละชนิดเพิ่มขึ้นมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบผลบวกและผลลบโดยรวม และในบรรดาชุดตรวจ ELISA น้ำยาของบริษัท Pasteur ยังคงให้ผลบวกคลาดเคลื่อนมากที่สุด (29.5%) และของบริษัท Organon น้อยที่สุด (16.1%) ส่วนผลลบคลาดเคลื่อนมากที่สุด (3.1%) ได้แก่ บริษัท Abbott ส่วนบริษัท Organon และ Wekkcine ต่ำที่สุด (0.6%) (ตารางที่ 6)

**ตารางที่ 6** ผลการตรวจการติดเชื้อ HIV โดยน้ำยา ELISA และ PA แล้วยืนยันผลตรวจโดยวิธี Western blot

| | FP<br>จำนวน (%) | FN<br>จำนวน (%) | TU/T<br>จำนวน (%) |
|---|---|---|---|
| ELISAs | | | |
| Organon | 18/112 (16.1) | 1/158 (0.6) | 19/270 (7.0) |
| Abbott | 19/109 (17.4) | 5/161( 3.1) | 24/270 ( 8.9) |
| Wellcome | 20/114 (17.5) | 1/156 ( 0.6) | 21/270 (7.8) |
| Pasteur | 39/132 (29.5) | 2/138(1.5) | 41/270 (15.2) |
| $PA_1$ | 14/99 (14.1) | 10/171 (5.8) | 24/270 (8.9) |
| $PA_2$ | 26/115 (22.6) | 6/155 (3.9) | 32/270 (11.9) |

ผลเปรียบเทียบการตรวจวิเคราะห์ในแต่ละกลุ่มเป้าหมาย จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้น้ำยาของบริษัท Pasteur ซีรั่มตัวอย่างจากเพศชายมีค่าความคลาดเคลื่อนของผลบวกสูงสุด (36.2%) ส่วนของหญิงทั่วไป 31.8% และหญิงบริการ 13.3% สิ่งที่น่าสังเกตก็คือซีรั่มหญิงบริการให้ผลบวกคลาดเคลื่อนใกล้เคียงกันเมื่อตรวจโดยน้ำยา ELISA แต่ละบริษัท (10.3-13.3%) และไม่มีความคลาดเคลื่อนของผลลบ (FN=0.0%) (ตารางที่ 7)

**ตารางที่ 7** เปรียบเทียบผลการตรวจการติดเชื้อ HIV โดยน้ำยา ELISA และ PA แล้วยืนยันโดยวิธี WB

| | ชาย | | หญิงทั่วไป | | หญิงบริการ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | FP | FN | FP | FN | FP | FN |
| | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) |
| ELISA | | | | | | |
| Organon | 10/48(20.8) | 1/71(1.4) | 5/35(14.3) | 0/54(0.0) | 3/29(10.3) | 0/33(0.0) |
| Abbott | 13/49(26.5) | 3/70(4.3) | 2/30(6.7) | 2/59(3.4) | 4/30(13.3) | 0/32(0.0) |
| Wellcome | 11/49(22.4) | 1/70(1.4) | 6/36(16.7) | 0853(0.0) | 3/29(10.3) | 0/33(0.0) |
| Pasteur. | 21/58(36.2) | 2/61(3.3) | 14/44(31.8) | 0/45(0.0) | 4/30(13.3) | 0/32(0.0) |
| $PA_1$ | 8/40(20.0) | 7/79(8.9) | 2/29(6.9) | 3/60(5.0) | 4/30(13.3) | 0/32(0.0) |
| $PA_2$ | 15/52(28.8) | 2/67(3.0) | 7/33(21.2) | 4/56(7.1) | 4/30(13.3) | 0/32(0.0) |

เมื่อจำแนกตามเพศและกลุ่มอายุ โดยแบ่งเป็นกลุ่มที่มีอายุต่ำกว่า 30 ปี และ 30 ปีขึ้นไป พบว่าเพศชายให้ผลบวกคลาดเคลื่อนในกลุ่มอายุ 30 ปีขึ้นไป สูงกว่ากลุ่มอายุต่ำกว่าสำหรับผลลบคลาดเคลื่อนมีลักษณะตรงกันข้าม ในกลุ่มหญิงที่อายุต่ำกว่า 30 ปี ไม่พบผลลบคลาดเคลื่อน แต่ให้ผลบวกคลาดเคลื่อนระหว่างร้อยละ 4.2-11.5 สำหรับกลุ่มอายุ 30 ปีขึ้นไป ให้ผลลบคลาดเคลื่อนระหว่างร้อยละ 0.0-6.8 (ตารางที่ 8)

การตรวจการติดเชื้อ HIV เมื่อทดสอบโดยใช้ชุดน้ำยา ELISA 2 ชนิด ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง (ตารางที่ 9) จะเห็นได้ว่าความคลาดเคลื่อนของผลการตรวจการติดเชื้อมีน้อยกว่าเมื่อใช้น้ำยา ELISA ตรวจเพียงชนิดเดียว (ตารางที่ 7) โดยเฉพาะในตัวอย่างซีรั่มของชายและหญิงทั่วไป จะเห็นว่ามีค่าลดลงอย่างชัดเจน สิ่งที่น่าสนใจอีกประการหนึ่งก็คือ แม้จะใช้น้ำยาคู่ใดในการร่วมกันตรวจสอบก็จะให้ผลการตรวจที่ถูกต้องเพิ่มขึ้นพอๆกัน ซีรั่มตัวอย่างของหญิงบริการมีความแตกต่างของผลบวก 10.3% เท่ากันทุกคู่ และไม่พบความคลาดเคลื่อนของผลลบ

**ตารางที่ 8** เปรียบเทียบผลการติดเชื้อ HIV โดยวิธี ELISA และ PA และยืนยันโดยวิธี Western blot

| | FP | | FN | |
|---|---|---|---|---|
| | < 30 ปี | ≥ 30 ปี | < 30 ปี | ≥ 30 ปี |
| | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) |
| **ชาย** | | | | |
| ELISA | | | | |
| Oganon | 4/30(13.3) | 6/17(35.3) | 1/34(2.9) | 0/37(0.0) |
| Abbott | 7/32(21.9) | 6/16(37.5) | 2/32(6.3) | 1/38(2.6) |
| Wellcome | 3/29(10.3) | 8/19(42.1) | 1/35(2.9) | 0/35(0.0) |
| Pasteur. | 9/35(25.7) | 12/22(54.5) | 1/29(3.4) | 1/32( 3.1) |
| $PA_1$ | 6/29(20.7) | 2/10(50.0) | 4/35(11.4) | 3/44(6.8) |
| $PA_2$ | 11/37(29.7) | 4/14(28.6) | 1/27(3.7) | 1/40(2.5) |
| **หญิงทั่วไป** | | | | |
| ELISA | | | | |
| Oganon | 2/25(8.0) | 3/10(30.0) | 0/15(0.0) | 0/39(0.0) |
| Abbott | 2/25(8.0) | 0/5 | 0/15(0.0) | 2/44(4.5) |
| Wellcome | 1/24(4.2) | 5/12(41.7) | 0/16(0.0) | 0/37(0.0) |
| Pasteur. | 3/26(11.5) | 11/18(61.1) | 0/14(0.0) | 0/31(0.0) |
| $PA_1$ | 1/24( 4.2) | 1/5 | 0/16(0.0) | 3/44(6.8) |
| $PA_2$ | 2/24( 8.3) | 5/9 | 1/16(6.3) | 3/40(7.5) |

**ตารางที่ 9** เปรียบเทียบผลการตรวจการติดเชื้อ HIV โดยใช้น้ำยา ELISA 2 ชนิดและยืนยันด้วยวิธี WB

| ELISA KITS | ชาย | | หญิงทั่วไป | | หญิงบริการ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | FP | FN | FP | FN | FP | FN |
| | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) | จำนวน(%) |
| Organon&Abbott | 3/39(7.7) | 3/80(3.8) | 0/28(3.3) | 2/61(3.3) | 3/29(10.3) | 0/33(0.0) |
| Organon&Wellcome | 3/41(7.3) | 1/78(1.3) | 0/30(0.0) | 0/59(0.0) | 3/29(10.3) | 0/30(0.0) |
| Organon&Pasteur | 2/39(5.1) | 2/80(2.5) | 0/30(0.0) | 0/59(0.0) | 3/29(10.3) | 0/30(0.0) |
| Abbott&Wellcome | 2/38(5.3) | 3/81(3.7) | 0/28(0.0) | 2/61(3.3) | 3/29(10.3) | 0/30(0.0) |
| Abbott&Pasteur | 3/39(7.7) | 3/80(3.8) | 0/28(0.0) | 2/61(3.3) | 3/29(10.3) | 0/30(0.0) |
| Wellcome&Pasteur | 3/40(7.5) | 2/79(2.5) | 1/31(3.2) | 0/58(0.0) | 3/29(10.3) | 0/30(0.0) |

**วิจารณ์ผล**

เนื่องจากการตรวจการติดเชื้อ HIV ที่ทุ่นค่าใช้จ่ายและรวดเร็วและถูกต้องในการให้คำตอบแก่ผู้เข้ามาตรวจเป็นความปรารถนาสูงสุดของการตรวจในห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เนื่องจากการแพร่ระบาดของเชื้อเป็นไปอย่างแพร่หลายมาก จึงมีตัวอย่างเข้ามาเพื่อตรวจเพิ่มขึ้นเป็นเงาตามตัว การใช้น้ำยาสำเร็จรูป ELISA จึงจำเป็นสำหรับห้องปฏิบัติการที่วิเคราะห์ตัวอย่างจำนวนมาก ส่วนน้ำยาสำเร็จรูปชนิด particle agglutination (PA) เป็นที่นิยมใช้สำหรับการตรวจของห้องปฏิบัติการที่มิได้ตรวจตัวอย่างมากนักหรือในการตรวจสอบเป็นครั้งคราว แม้ว่าการผลิตน้ำยาเพื่อตรวจการติดเชื้อจะมีการพัฒนาให้มีคุณภาพดีขึ้นเรื่อยๆแต่การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำยาแต่ละชนิดก็ยังคงมีความจำเป็นอยู่ตลอดเวลา ทั้งนี้เนื่องจากผลการทดสอบกระทบต่อเจ้าของซีรั่มเป็นอย่างยิ่ง เพราะการติดเชื้อ HIV ยังไม่มีทางรักษาให้หายขาดได้ การเตรียมแอนติเจนของแต่ละบริษัทผู้ผลิตเพื่อเคลือบลงบนผิวของหลุมไมโครไตเตอร์เพลทหรือบนผิวเจลก็ดี ย่อมมีความแตกต่างกันตามความชำนาญและเทคนิคของแต่ละบริษัท ดังนั้นจึงเป็นเหตุให้ผลการตรวจมีความแตกต่างกัน[7] การเลือกตัวอย่างเพื่อมาทดสอบคุณภาพของน้ำยาก็มีความสำคัญมากเช่นเดียวกัน การทดสอบส่วนใหญ่อาศัยตัวอย่างที่ได้ตรวจสอบมาอย่างดีแล้ว และไม่ค่อยมีความหลากหลายเหมือนกับการทดสอบโดยใช้ตัวอย่างจริงจากภาคสนาม[8] และเป็นการทดสอบจากซีรั่มที่ให้ผลบวกเป็นส่วนใหญ่[11] ผลของการทดสอบจึงอาจจะแตกต่างกันทั้งธรรมชาติของตัวอย่างเอง สภาพการเก็บรักษาตัวอย่างและคุณภาพน้ำยาที่ใช้ การนำเอาตัวอย่างจากผู้ที่เข้ามารับการรักษาที่โรงพยาบาลสันป่าตอง ซึ่งประเมินว่าจะมีความหลากหลายของการติดเชื้อ HIV และมีการติดเชื้อ HIV โดยรวมค่อนข้างสูง (10.02%) ส่วนน้ำยา PA ก็ให้ผลบวกและผลลบคลาดเคลื่อนต่างกันมาก แม้จะใช้จากบริษัทผู้ผลิตเดียวกันอาจจะเนื่องจากความชำนาญของผู้อ่านผล และคุณภาพของน้ำยาที่ผลิตมาแต่ละรุ่น Ujhelyi et al [9] ได้วิเคราะห์ความไม่แน่นอนในเชิงคุณภาพของการผลิตน้ำยาตรวจการติดเชื้อ HIV พบว่าน้ำยาของแต่ละบริษัทให้ผลต่างกัน นอกจากนี้ น้ำยาจากบริษัทเดียวกันแต่เป็นคนละรุ่นก็ให้ผลต่างกัน อีกประการหนึ่งที่ Ujhelyi และคณะได้พบคือแม้ในไมโครไตเตอร์เพลทเดียวกัน ก็ยังมีความไม่แน่นอนของผลการตรวจได้ ซึ่งแสดงว่าวิธีการเคลือบแอนติเจนในหลุมเพลทยังมีคุณภาพไม่ดีพอ อนึ่งความคลาดเคลื่อนของผลบวกที่ยังคงเป็นปัญหาใหญ่ของการผลิตน้ำยาสำเร็จรูปส่วนหนึ่งอาจเกิดจากแอนติบอดีส์ที่เกิดจากแอนติเจน HLA-DR ที่อยู่บนผิวของ $H_9$ cells ที่ใช้ในการเลี้ยง HIV [10,11]

ในแง่ของความไวและความจำเพาะของน้ำยาที่ใช้ในการทดสอบ ส่วนใหญ่มีค่าใกล้เคียงกัน และคุณภาพใกล้เคียงกับการทดสอบด้วยน้ำยาประเภทเดียวกันนี้ในอาฟริกากลาง[8,12] อย่างไรก็ดีการเปรียบเทียบคุณสมบัติของน้ำยาจำเป็นต้องใช้ตัวอย่างชุดเดียวกันจึงจะเปรียบเทียบกันได้[12]

ในการวิจัยครั้งนี้ได้นำตัวอย่างที่ทำการตรวจกรองโดยน้ำยาของบริษัทต่างๆ มาสุ่มตัวอย่างโดยพิจารณาจากอัตราการติดเชื้อและจำนวนประชากรของตัวอย่างรวมทั้งสิ้น 270 ตัวอย่าง จาก 15,00 ตัวอย่างที่ยังคงมีปริมาตรเพียงพอสำหรับการทดสอบ มาตรวจสอบอีกครั้งหนึ่งโดยตรวจด้วยวิธี WB ทุกตัวอย่าง ทั้งนี้ก็เพื่อทดสอบว่ามีตัวอย่างใดที่สุ่มมาที่ให้ผลลบคลาดเคลื่อน (FN) หรือ ให้ผลบวกคลาดเคลื่อน (FP) ตารางที่ 6 แสดงว่าน้ำยา ELISA และ PA มีความคลาดเคลื่อนในแง่ของผลบวกมากขึ้น เช่น จากเดิมบริษัท ง 20.8% เพิ่มเป็น 29.5% น้ำยาจากเกือบทุกบริษัท

มีค่าผลบวกคลาดเคลื่อนเพิ่มขึ้นทั้งนี้เนื่องจากเป็นการรายงานผลแบบเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างต่อตัวอย่าง ระหว่าง WB กับน้ำยา ELISA เมื่อจำแนกข้อมูลการติดเชื้อออกเป็นเพศชาย หญิง และหญิงบริการ หรือตามเพศและอายุ จะเห็นความคลาดเคลื่อนปรากฏมากที่ผลบวกของซีรั่มชายและหญิงทั่วไปมากกว่าของหญิงบริการ ส่วนความคลาดเคลื่อนของ ผลลบในการวิเคราะห์ซีรั่มของหญิงบริการนั้นไม่พบเลย อาจเป็นเพราะว่าแอนติบอดีต่อ HIV ในซีรั่มมีมากในรายที่ติดเชื้อ จึงทำให้ผลชัดเจนในการทดสอบด้วยน้ำยาทุกบริษัทและวิธี WB

ในการตรวจการติดเชื้อ HIV ส่วนใหญ่เป็นการตรวจกรองโดยใช้วิธีตรวจโดยรวดเร็ว (rapid test) หรือใช้วิธี ELISA ถ้าหากว่าตัวอย่างใดให้ผลบวกจึงตรวจยืนยันอีกด้วยวิธี WB อีกวิธีหนึ่งที่จะลดค่าใช้จ่ายเนื่องจากการตรวจยืนยันโดยวิธี WB ซึ่งมีราคาแพงมาก ก็คือการใช้ ELISA 2 ชนิดที่ต่างบริษัทกันและใช้แอนติเจนเคลือบเพลทที่เตรียมต่างกัน ถ้าหากว่าน้ำยาทั้ง 2 บริษัทให้ผลบวกให้ถือเป็นบวก หากได้ผลต่างกันให้ยืนยันด้วยวิธี WB การตรวจด้วยวิธี WB ถือเป็นการตัดสิน นอกจากนี้ยังมีการใช้น้ำยา 2 บริษัทที่อาจจะเป็นการตรวจโดยวิธี ELISA คู่กับวิธี PA หรือการตรวจด้วยการดูผลด้วยตาวิธีอื่น [13-15] ผลการเปรียบเทียบโดยใช้น้ำยา 2 บริษัทแล้วยืนยันผลการตรวจด้วย WB ทำให้ความคลาดเคลื่อนของผลบวกลดลงอย่างชัดเจน (ตารางที่ 9) ทั้งในเพศชาย หญิง ส่วนของหญิงบริการวิเคราะห์ผลคลาดเคลื่อนลดลงเพียง 1 ราย ในทุกคู่ของน้ำยาที่ทดสอบ แสดงว่าหากจะใช้การตรวจการติดเชื้อโดยวิธี ELISA ควรใช้น้ำยา 2 ชนิด เพื่อลดความคลาดเคลื่อนของผลบวกและผลลบ

จึงสรุปว่าในการทดสอบการติดเชื้อโดยน้ำยาสำเร็จรูป ไม่ว่าจะเป็นชนิดใดก็มีโอกาสที่จะเกิดความคลาดเคลื่อนของผลบวกและลบได้ หากมีการตรวจกรองโดยใช้น้ำยา 2 ชนิด ที่เหมาะสมน่าจะให้ผลที่ถูกต้องมากขึ้น อย่างไรก็ดีจะต้องยืนยันผลบวกด้วยวิธี WB หรือวิธีอื่นที่ได้พัฒนาขึ้นมาในระยะหลัง เพื่อขจัดปัญหาเรื่องผลกระทบต่อผู้มารับการตรวจการติดเชื้อ HIV

**เอกสารอ้างอิง**


1. Limsuwan, A., Kanapa, S., Siristonapun Y., (1986) Acquired immune deficiency syndrome in Thailand. A report of two cases. J. Med Asscoc. Thailand 69, 164-169
2. Poshyachinda, V. (1990) Overview of human immunodeficiency virus infection in Thailand; A concise review of status and epidemiology. Institute of Health Research, Chulalongkorn University. Presented at the meeting of working group of HIV infection and drug abuse in the Western Pacific Region 15-19 October 1990, Kuala Lumpur, Malasia
3. สรุปสถานการณ์โรคเอดส์ รายงานการเฝ้าระวังโรคประจำสัปดาห์ ปีที่ 26(2) กองระบาดวิทยา กระทรวงสาธารณสุข 3 มีนาคม 2538 หน้า 13-24
4. Burke, D.S. Brandt, B.L. Redfield, R.R. (1987) Diagnosis of human immunodeficiency virus infection by immunoassay usin a molecularly cloned and expressed virus envelope polypeptide : Comparison to Western blot on 2707 consecutive serum samples. Ann. Intern. Med. 106, 671-676.

5. Saah, A.J., Farzadegan, I.T. and Lee, T.H. (1987) Early antibodies human immunodeficiency virus. Clin. Res. 35, 488A.

6. Nishanian, P., Taylor, J. and Korns, E.(1987) Significance of quantitative ELISA results in evaluation of three ELISA and Western blot tests for detection of antibodies to human immunodeficiency virus in a high risk population. J. Clin. Microbiol. 25, 395-400.

7. Courouce, A.M., (1986) Evaluation of eight ELISA kits for the detection of anti LAV/HTLV-III antibodies. Lancet 1152-1153.

8. Behets, F., Disasi, A., Ryder, R.W., et al (1991) Comparison of five commercial enzyme-linked immunosorbent asays and western immuno-blotting for human immunodeficiency vius antibody detection in senem samples from Central Africa. J. Clin. Microbiol. 29, 2280-2284.

9. Ujhelyi, E., Füst, G., Katonka, M., Héjjas, M. and Hollan, S. (1989) Pitfalls in HIV serology : reagent-dependent changes in sensitivity and specificity of ELISA kits. J. AIDS 2, 208-211.

10. Kühnl P., Seidl S., Holzberger, g. (1985) HLA-DR4 antibodies cause positive HTLV III antibody ELISA results. Lancet 1, 1222-3.

11. Weiss, S.H., Mann, D.L., Murray, C. and Popuvic, M. (1985) HLA-DR antibodies and HTLV III antibody ELISA testing. Lancet. 2, 157

12. Concensus Conference (1986) The impact of routine HTLV III antibody testing of blood and plasma donors on public health. JAMA 256, 1778-1783.

13. Mitchell, W.W., Mboup, S., Mingle, J., et al (1991) Field evaluation of alternative HIV testing strategy with a rapid immunobinding assay and an agglutination assay. The Lancet. 337, 1328-1331.

14. Van de Perre, P., Nzaranda, D., Allen, S., Riggin, C.H. Sprecher-Gold berger, S. and Butzler, J-P., (1988) Comparison of six serological assays for human immunodeficiency virus antibody detection in developing countries. J. Clin. Microbiol. 26, 552-556.

15. Spielberg, F., Kabeya, C.M. Quinn, T.C. et al (1990) Performance and cost-effective of a duae rapid assay system for scrcening and confirmation of human immunodeficiency virus type 1 seropositivity J. Clin. Microbiol. 28, 303-306.

**********